بررسی تولید رنگ دانه لیکوپن از جلبک *دونالینا سالینا*

اعظم عباسی[۱]، حمیدرضا صمدلویی[۱]* و احمد رجایی[۲]

[۱]دانش اموخته دانشگاه صنعتی شاهرود،دانشکده کشاورزی گروه علوم و صنایع غذایی

[۲]استادیار دانشگاه صنعتی شاهرود،دانشکده کشاورزی گروه علوم و صنایع غذایی

hsamadlouie@yahoo.com

چکیده

هدف از این پژوهش اندازهگیری لیکوپن موجود در جلبک *دونالینا سالینا* در شرایط متفاوت محیط کشت بود. نتایج آزمون تأثیر PHهای مختلف در محیط کشت دارای منبع کربنی گلوکز و منبع نیتروژنی پپتون گوشت نشان داد که بیشترین میزان تولید رنگدانه لیکوپن و رشد توده زیستی در pH=۷/۵ بود. منبع کربنی معدنی دیاکسیدکربن تاثیر اندکی در تولید لیکوپن و توده زیستی داشت که افزودن نانوذره منیزیوم باعث افزایش تولید لیکوپن و رشد توده زیستی در این نمونهها شد. در ادامه با افزودن سویا بهعنوان منبع نیتروژنی آلی به این محیط افزایش بیشتر توده زیستی و تولید رنگدانه لیکوپن مشاهده شد. از سوی دیگر افزودن منبع نیتروژنی همراه منبع کربنی آلی به محیط کشت حاوی دیاکسیدکربن باعث افزایش توده زیستی و کاهش میزان تولید لیکوپن گردید. نتایج حاصل از تأثیر ۳نانوذره تیتانیوم (T)، نقره (Ag) و منیزیوم (Mn) نشان داد که بیشترین میزان لیکوپن در نمونههای دارای ۰۰۵/ میلیگرم در لیتر۰نانوذره بود.که در مجموع تأثیر تیتانیوم در بین این ۳نانوذره در تولید لیکوپن بیشتر بود. نتایج حاصل از تأثیر مقدار نمک بر میزان تولید لیکوپن در غلظت ۵درصد نمک افزایش داشت که با افزایش بیشتر غلظت نمک تولید لیکوپن کاهش داشت درحالیکه غلظت ۱۰ درصد نمک باعث افزایش رشد توده زیستی شد.

کلمات کلیدی : *دونالینا سالینا*، لیکوپن، نمک، رشد و نانوذره

مقدمه

جلبک *دونالینا سالینا* اولینبار در سال ۱۸۳۸ توسط Michel Felix Dunal در فرانسه مشاهده و در سال ۱۹۰۵ Teodoreseاین جلبک شناسایی شده توسط دونال را به نام دونالیهلا معرفی کرد. اولین مطالعات اساسی پیرامون تاکسونومی جنس دونالیهلا توسط Teodorese در سالهای ۱۹۰۵تا ۱۹۰۶روی دونالیناسالینا آغاز شد Preisig). (۱۹۹۲او برای نخستین بار نام دونالینا را بهعنوان یک جنس جدید توصیف نمود و ثابت کرد که این جنس بهطور واضح و مشخصی از سایر جنسهای خویشاوند نظیر هماتوکوکوس و کلامیدوموناس[۱]متفاوت و مجزا میباشد Borowitzk and). (۲۰۰۷ Siva دونالینا جلبکی است تکسلولی و سبز که در آبهای شور زندگی میکند. دارای دو تاژک[۲] میباشد که از نظر آناتومی از قطب جلویی سلول خارج میشوند (Preisig,۱۹۹۲) . این جلبک فاقد دیواره سلولی میباشد و بنابراین بهسرعت نسبت به تغییرات و فشارهای اسمزی خارج و داخل سلولی واکنش نشان میدهد Bental and). (Degani,۱۹۹۲ مقاومت بالای گونههای دونالینا نسبت به تنشهای محیطی، مستلزم وجود مکانیسمهای بهخصوصی جهت سازگار شدن با محیط میباشد(شریعتی و مصطفوی، ۱۳۸۰). از جمله مکانیسمهایی که سلولهای دونالینا را نسبت به محدوده وسیعی از شوری مقاوم نمود مربوط به توانایی این جلبک در تغییر غلظت گلیسرول درون سلولی میباشد.

---

[۱] chlamydomonas

[۲] flagella

Algalmag

(Avron,۱۹۹۲;Shariati and Lilley,۱۹۹۴). هنگامی‌که سلول در محیطی با شوری بالا قرار دارد، مقدار گلیسرول درون سلولی بالغ بر ۵۰٪ افزایش می‌یابد، که این مقدار برای مواجه شدن با بالاترین مقدار فشار اسمزی نیز کافی می‌باشد. در این شرایط گلیسرول آنزیم‌ها را در مقابل ممانعت کننده‌ها و هم چنین غیر فعال‌کننده‌ها حفظ می‌نماید (Hosseini Tafreshi and Shariati,۲۰۰۹). جلبک دونالیناسالینا قادر است تحت شرایط ویژه مقادیر زیادی بتاکاروتن ذخیره کند. هنوز نمی‌توان درباره وظایف بتاکاروتن و علل افزایش سنتز آن در جلبک دونالیناسالینا به صراحت اظهارنظر کرد. فرضیاتی که در این رابطه وجود دارد این است که نقش بتاکاروتن به عنوان یک مخزن ذخیره کربن جهت استفاده در شرایط محدودیت رشد، فرونشاندن اکسیژن رادیکالی کاتالیز شده توسط کلروفیل و مقابله با صدمات حاصل از نور شدید با جذب تشعشعات اضافی باشد (Avron and Ben-Amotz, ۱۹۹۲). با توجه به نکات ذکر شده هدف این تحقیق اندازه‌گیری رنگدانه در شرایط متفاوت رشد می‌باشد

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه:

استوک خالص میکروجلبک *دونالینا سالینا* از آزمایشگاه کشت جلبک گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی خزر (کاسپین) ساری تهیه گردید. نمونه در یک ظرف یک لیتری درون یخچال با دمای حدود ۴+ نگه‌داری شد.

تهیه محیط توسعه تلقیح:

جهت تهیه محیط توسعه تلقیح گلوکز(۵۰gr/l) و عصاره مخمر(۵gr/l) و نمک‌های معدنی با ۱۰۰میلی‌لیتر آب به حجم رسانیده pH محیط با استفاده از اسیدکلریدریک و هیدروکسیدسدیم ۰/۱مولار بین ۷ تا ۷/۵ تنظیم گردید. سپس محیط توسعه تلقیح توسط دستگاه اتوکلاو به مدت ۲۰دقیقه استریل گردید. آنگاه تحت شرایط کاملا استریل از نمونه جلبک اولیه به میزان ۳۰سی‌سی به آن اضافه گردید. درب ارلن با پنبه استریل مسدود شده و سپس در دستگاه شیکر به مدت ۴ روز در دمای ۲۴درجه و دور rpm ۲۴۰گذاشته شد.

کشت جلبک در محیط مایع :

جهت بهینه‌سازی شرایط موثر در تولید لیکوپن و میزان زیست توده جلبکی از چند فاکتور مهم و تأثیرگذار نظیر PH و غلظت‌های مختلف نمک و نانوذرات استفاده شد.

رسوب‌گذاری و استخراج توده زیستی

سانتریفیوژکردن مستقیم‌ترین روش برای جداسازی جلبک رشد یافته از محیط کشت پس از شیکرگذاری می‌باشد. برای این منظور در این مرحله ارلن‌های حاوی توده زیستی در محیط کشت فرموله شده در روز ۷ به فالکون‌های مخصوص سانتریفیوژ انتقال پیدا کرد و در دور rpm۲۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و توده زیستی از آب حاوی محیط کشت جدا گردید در ادامه پس از خروج آب رویی از فالکون‌ها توده زیستی باقی مانده در ته فالکون‌ها را در پلیت‌هایی با وزن مشخص منتقل شدند (loeblich, L.A. ۱۹۷۲).

فرآیند خشک کردن توده زیستی

بعد از انتقال به پلیت‌ها نمونه‌ها درون آون گذاشته شد تا خشک شوند. این فرآیند در دمای ۳۷تا۴۰درجه به مدت ۵ ساعت انجام شد.

استخراج رنگدانه لیکوپن

بعد از اینکه نمونه‌ها خشک شدند پس از توزین با هاون آزمایشگاهی به صورت پودر در آورده زیرا برای استخراج لیکوپن بایستی اندازه ذرات بسیار کوچک شود تا حلال به راحتی در آن نفوذ کند و مقدار مورد نیاز از پودرها را با توجه به میزان داده شده در جدول به داخل میکروتیوپ‌ها منتقل و در داخل آن استن به میزان یک سی‌سی برای هر نمونه ریخته شد و بعد از ورتکس کردن (این مرحله به استخراج بهتر کمک می‌کند) نمونه‌ها به مدت ۱۰دقیقه، در داخل سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰rpmگذاشته سپس محلول رویی با دقت و با استفاده از سمپلر به میکروتیوپ‌های جدید منتقل شد (loeblich, L.A. ۱۹۷۲).

اندازه گیری میزان لیکوپن موجود

برای این کار از دستگاه اسپکتروفتومتری استفاده شد. ابتدا برای صفر کردن دستگاه، حلال استن به کار گرفته شد. محلول استاندارد تهیه شده براساس غلظت‌های (۱،۲/۵،۵،۱۰) در دستگاه اسپکتروفوتومتری در طول موج ۴۶۱ خوانده شد به این صورت که در طول موج برابر ۴۶۱ که مربوط به رنگدانه لیکوپن می‌باشد بیشترین میزان جذب نور صورت گرفت و پس از صفر کردن یا به اصطلاح blank کردن دستگاه در طول موج ۴۶۱ نانومتر و ریختن نمونه‌ها در کووت‌های شیشه‌ای میزان جذب نور نمونه‌ها خوانده شد و براساس میزان نور جذب شده مقدار لیکوپن موجود در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. Ben-Amotz, A., Avron, M.,۱۹۸۳)

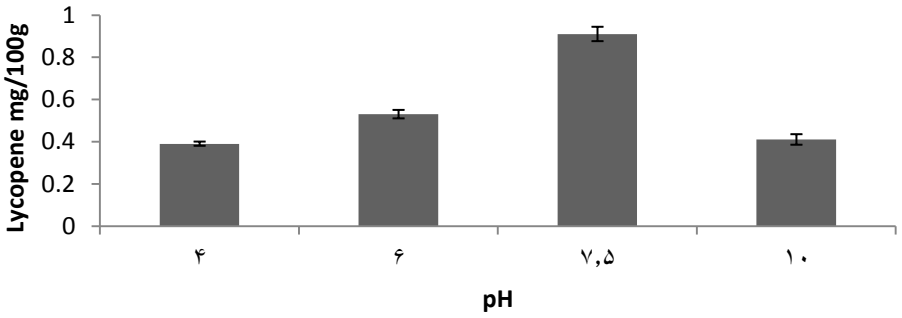
نتایج و بحث

نوع رنگدانه تولیدی از جلبک دونالیناسالینا

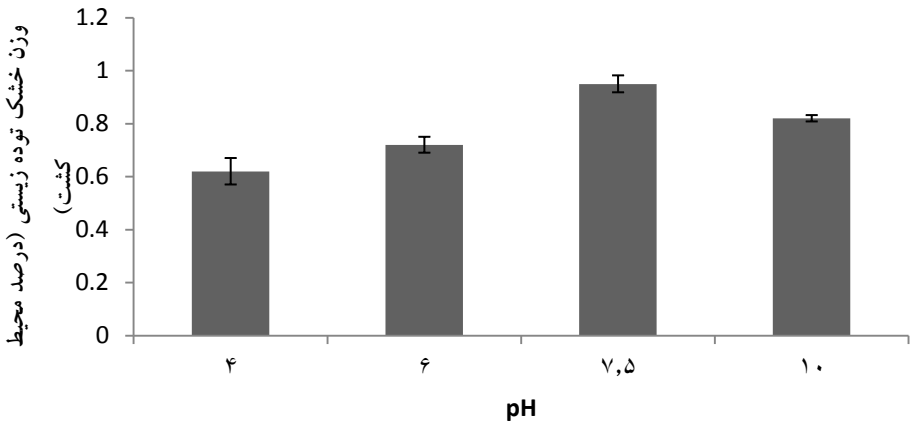
جلبک *دونالینا سالینا* به‌منظور محافظت از فعالیت حیاتی‌اش در مقابله اکسیژن‌های رادیکالی شروع به‌تجمع رنگدانه کرده که این رنگدانه‌ها رادیکال‌های اکسیژن تولید شده در اثر فعالیت‌های حیاتی را غیرفعال می‌کنند (Telfer ۲۰۰۲). آنالیز اولیه رنگدانه تولیدی از جلبک *دونالینا سالینا* نشان داد که تنها رنگدانه غالب این جلبک لیکوپن می‌باشد.

بررسی اثر pH بر تولید رنگدانه لیکوپن و رشد توده زیستی

در این مرحله از تحقیق منبع نیتروژنی پپتون گوشت در سطح ۱۵ گرم در لیتر و منبع کربنی گلوکز که در سطح ۵۰ گرم در لیتر تنظیم شد. با افزایش pH توده زیستی تا pH برابر ۷/۵ افزایش یافت افزایش بیشتر pH باعث شد که میزان توده زیستی کاهش یابد همین روند برای میزان رنگدانه لیکوپن مشاهده شد که بیشترین میزان رنگدانه لیکوپن در pH برابر ۷/۵ بدست آمد. این نتایج با نتایج Leoblich (۱۹۷۲) و Gimmler و همکاران (۱۹۸۱) مطابقت داشت.



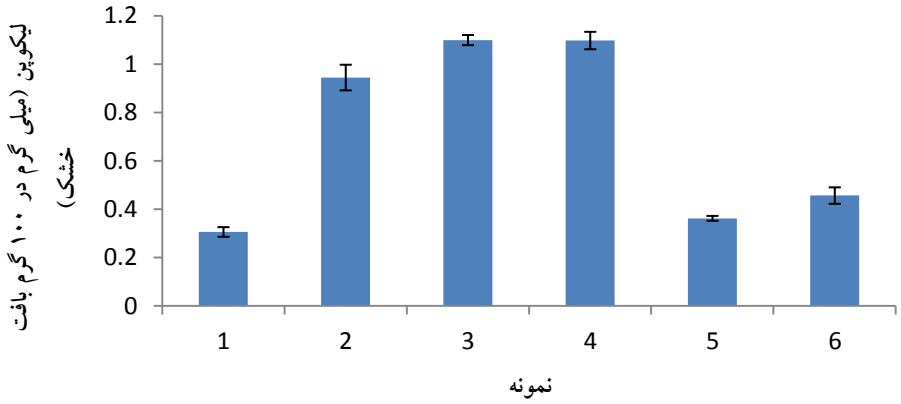
شکل ۱. تأثیر pH بر میزان تولید رنگدانه لیکوپن بوسیله گونه جلبک دونالینا سالینا



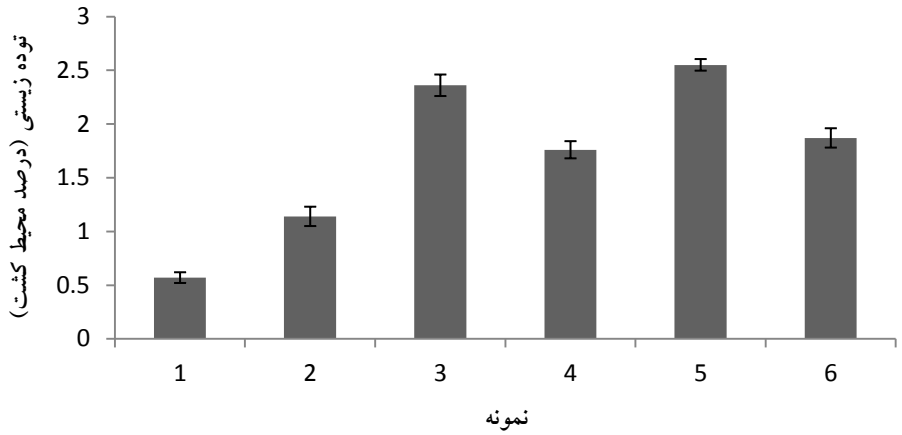
شکل۲. تأثیر pH بر میزان تولید توده خشک زیستی بوسیله گونه جلبک دونالیناسالینا

تأثیر منبع کربنی دی‌اکسید کربن بر رشدتوده زیستی و رنگدانه لیکوپن

در این مرحله از تحقیق از دی اکسید کربن با میزان ۱۲٪ حجمی استفاده شد سطوح متفاوت سویا، گلوکز و نانوذره منیزیم نیز برای بررسی بیشتر تأثیر همزمان کربن آلی و معدنی بر میزان لیکوپن انجام شد. عناصر معدنی ذکر شده نیز استفاده شد و pH بر روی ۷/۵ تنظیم شد. نتایج نشان داد که کمترین میزان لیکوپن (۰/۳mg/۱۰۰gr) در نمونه بدست آمد که فقط از دی اکسید کربن به همراه عناصر معدنی استفاده شد. افزودن نانو ذره منیزیم به تنهایی علاوه بر محرک رشد سلول باعث شد میزان لیکوپن تا ۰/۹۴ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک نمونه افزایش یابد. افزودن منبع نیتروژنی سویا به محیط دی اکسید کربن تأثیر قابل توجه ای در افزایش توده زیستی و رنگدانه لیکوپن داشت. افزودن منبع کربنی و نیتروژنی به این محیط باعث شد میزان وزن خشک توده زیستی افزایش قابل توجه ای پیدا کرده در حالیکه تأثیر منفی در میزان تجمع لیکوپن در توده زیستی داشت. بیشترین میزان لیکوپن در نمونه‌های بدست آمد که علاوه بر دی اکسید کربن، گلوکز و سویا نیز به عنوان منبع کربنی و نیتروژنی آلی به محیط کشت اضافه شده بود. وزن خشک توده زیستی با افزایش نانو ذره منیزیم افزایش یافت و افزودن سویا و گلوکز به این محیط محرک بیشتر توده زیستی بود. نتایج نشان داد افزایش بیشتر میزان نیتروژن و کربن باعث شد که میزان توده زیستی کاهش یابد. این نتایج با نتایج Srinivasan و همکاران(۲۰۱۵) و Giordino (۱۹۹۷) و AL-Adali (۲۰۱۲) مطابقت داشت.



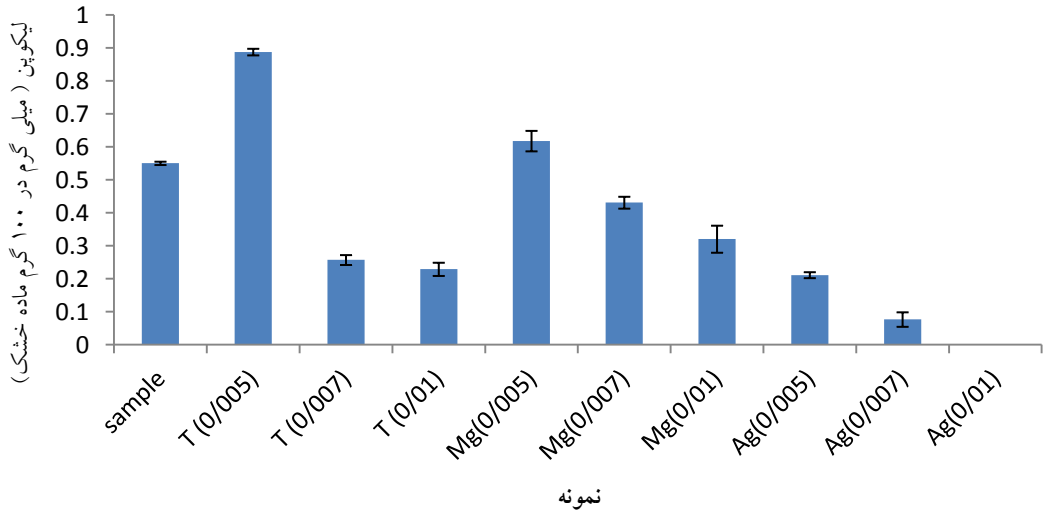
شکل۳- تأثیرمنبع کربنی دی اکسیدکربن بر تولید لیکوپن بوسیله جلبک دونالیناسالینا



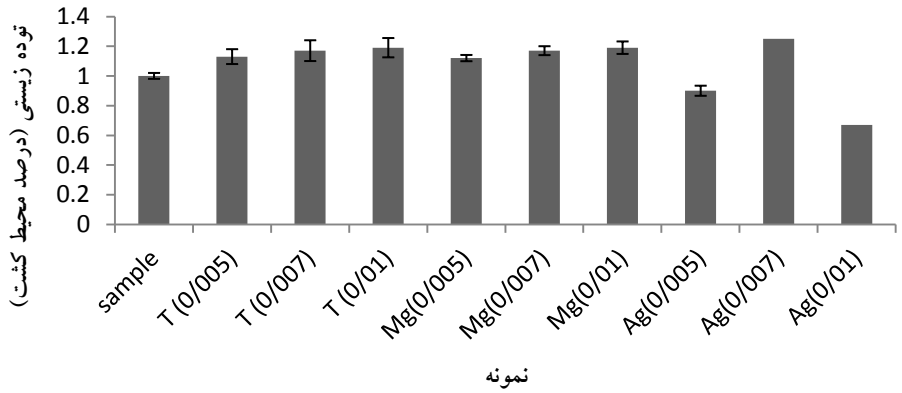
شکل۴- تأثیرمنبع کربنی دی اکسیدکربن بر تولید توده زیستی بوسیله گونه جلبک دونالیناسالینا

تأثیر نانوذرات نقره، منیزیم و تیتانیوم بر تولید رنگدانه و رشد توده زیستی

گلوکز، پپتون گوشت و ۵گرم نمک و pH برابر ۷/۵ برای هر نمونه و افزودن سه نانوذره نقره، مننزیوم و تیتانیوم در مقادیر مختلف جهت رشد و تولید رنگدانه بررسی شد. نتایج نشان داد که افزایش نانو ذره از سطح ۰/۰۰۵تا سطح ۰/۰۱ درصد باعث شده که میزان رنگدانه کاهش یابد بیشتر ین میزان رنگدانه در سطح ۰/۰۰۵ درصد بدست آمد. افزودن نانو ذره تأثیر قابل توجه بر روی رشد و وزن خشک توده زیستی نداشت. نانو ذره تیتانیوم ما بین نانو ذرهها بیشتر تأثیر را در تولید رنگدانهها داشت.این نتایج با نتایج Clark در سال ۲۰۰۱ مطابقت داشت.



شکل۵- تأثیر نانوذرات نقره، منیزیوم و تیتانیوم بر تولید رنگدانه لیکوپن در جلبک *دونالینا سالینا*

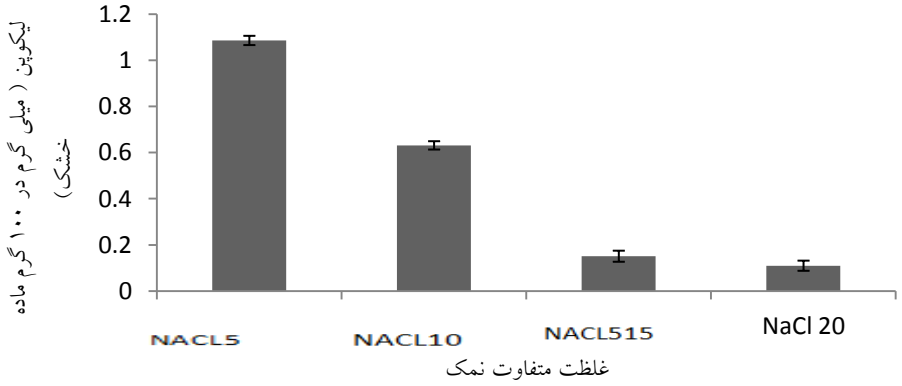


شکل۶- تأثیر نانوذرات نقره، منیزیوم و تیتانیوم بر تولید توده زیستی در جلبک دونالیناسالینا

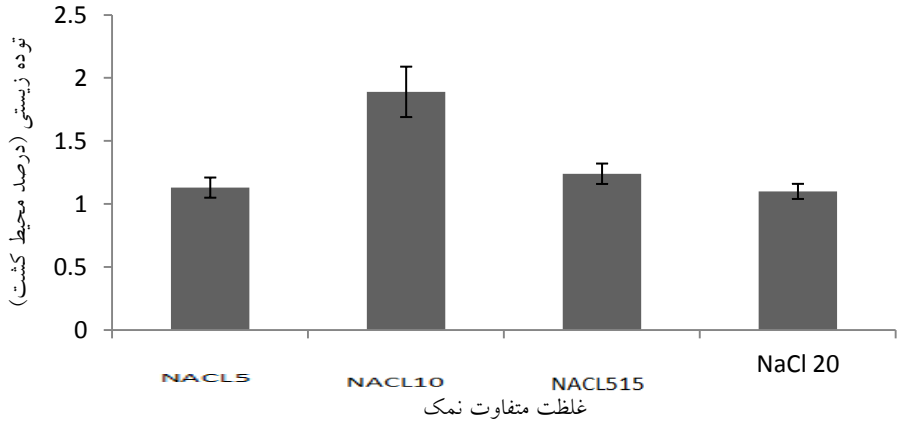
تأثیر مقدار نمک بر میزان تولید توده زیستی و رنگدانه در دو محیط نیتروژنی پپتون گوشت و سویا

در شرایط فشار اسمزی بالا بسیاری از جلبک‌های هالوفیلیک شروع به تجمع K^+ و Cl^- می‌کنند (Oren-Shamir, ۱۹۸۹). در حالیکه در جلبک دولینیا به علت فعالیت بالای پمپ Na^+ محتوی یون‌های داخل سلول کاهش می‌یابد (Katz et al., ۲۰۰۷) از اینرو در فشار اسمزی بالا جلبک شروع به تجمع گلیسرول کرده که فشار اسمزی داخل سلول را حفظ کند (Chitlaru and Pick ۱۹۹۱). تجمع و متورم شدن جلبک Dunaliella به عنوان نشانه ای به تغییرات اسمزی محیط کشت می‌باشد که باعث فعالیت آنزیم‌های غشاء شده و محرک تجمع گلیسرول در سلول است جریان کربن در تولید و تجمع نشاسته در کلروپلاست یا وارد شدن در فرایند تجمع رنگدانه و گلیسرول تحت تأثیر شوک‌های اسمزی محیط است (OrenShamir et al. ۱۹۸۹). تحقیقات نشان داده که میزان نمک محرک تولید رنگدانه می‌باشد کمتر از بهینه نمک به منظور رشد سلول می‌باشد..(Borowitzka et al. ۲۰۰۷; Borowitzka and Borowitzka ۱۹۸۸)

مقالات زیادی بر تأثیر نمک بر تولید رنگدانه انجام شده و تأثیر این محرک بر روی رشد و تولید رنگدانه انجام شده است از اینرو در این تحقیق از دو منبع نیتروژنی متفاوت به همراه نمک و تاثیر آن بر روی رشد و تولید رنگدانه بررسی شد. نتایج نشان داد که بالاترین میزان لیکوپن در سطح ۵ درصد نمک در محیط کشتی که با منبع پروتئینی سویا غنی شده بود بدست آمد. در حالی‌که روند رشد نشان می‌دهد-بیشترین میزان رشد در سطح ۱۰ درصد نمک مشاهده شد. افزایش بیشتر نمک بالای ۵ درصد باعث شد که میزان لیکوپن کاهش یافت.

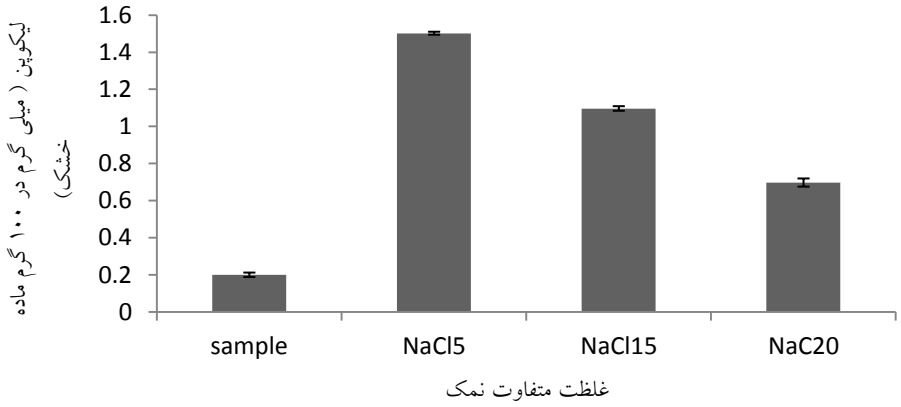


شکل۷- تأثیر میزان نمک بر میزان تولید رنگدانه لیکوپن در محیط نیتروژنی سویا

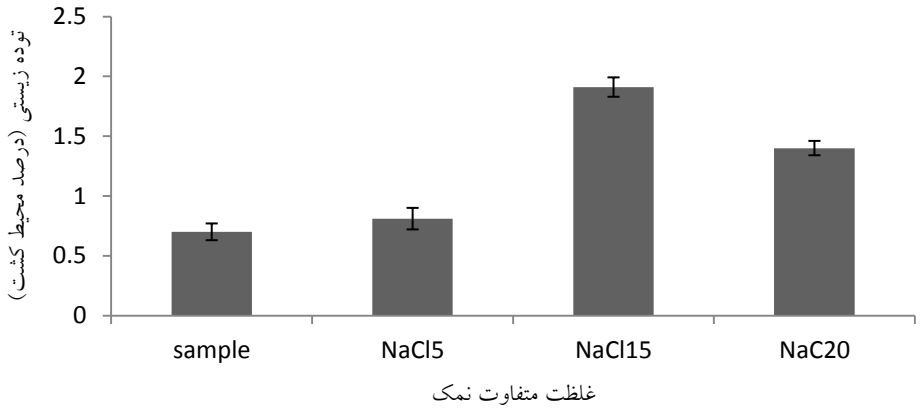


شکل۸- تأثیر میزان نمک بر میزان تولید توده زیستی در محیط نیتروژنی سویا

در مرحله بعد تحقیق از همان منابع و متغییر نمک مرحله قبل استفاده شد با این تفاوت که منبع نیتروژنی پپتون گوشت بود. نتایج نشان داد که همانند مرحله قبل سطح ۵ درصد نمک محرک تولید لیکوپن بود و افزایش بیشتر نمک تاثیر منفی در تولید لیکوپن داشت و همچنین سطح ۱۵ درصد نمک محرک رشد جلبک بود که در سطوح بالاتر میزان رشد کاهش یافت. تفاوت در این بود که منبع نیتروژنی پپتون محرک تولید بالاتر لیکوپن بود. این نتایج با نتایج Al-(۲۰۱۲) Adali مطابقت داشت.



شکل۹- تأثیر میزان نمک بر تولید رنگدانه لیکوپن در جلبک دونالیناسالینا در محیط نیتروژنی پپتون گوشت



شکل۱۰- تأثیر میزان نمک بر تولید توده زیستی در جلبک دونالیناسالینا در محیط نیتروژنی پپتون گوش

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده از تحقیق فوق چنین نتیجه گیری می‌شود که می‌توان از جلبک *دونالینا سالینا* به عنوان منبع خوب لیکوپن استفاده نمود. نتایج نشان دادکه افزایش pH بیشتر از مقدار ۷/۵ تأثیر منفی بر تولید لیکوپن و رشد توده زیستی در محیط فرموله شده داشت و همین طوردر pH پائین تر از ۷/۵ نیز همین روند را شاهد بودیم. این نتیجه ممکن است به حلالیت بیشتر لیکوپن در این pH نسبت به pH های دیگر نسبت داده شود. نتایج بدست آمده از استفاده از گاز دی اکسید کربن به عنوان منبع کربنی معدنی به همراه منبع کربنی آلی گلوکز و نیتروژنی آلی پپتون گوشت نشان داد که میزان تولید لیکوپن در این محیط کشت افزایش یافته بود. در حالی که استفاده از گاز دی اکسیدکربن بدون اضافه کردن منبع کربنی آلی گلوکز و منبع نیتروژنی آلی پپتون گوشت تأثیر اندکی در تولید لیکوپن و رشد توده زیستی داشت. نتایج نشان داد که اضافه کردن نانوذره منیزیوم به محیط کشت، محرک تولید لیکوپن بود به طوری که (۰/۰۰۵ mg/l) از این نانو ذره باعث افزایش تولید لیکوپن در محیط کشت حاوی منبع کربنی معدنی دی اکسیدکربن شد. استفاده ۳ نانوذره منیزیوم، تیتانیوم و نقره در محیط کشت نشان داد که افزودن این سه نانو ذره تأثیر قابل ملاحظه ای در رشد توده زیستی نداشتند. نتایج نشان داد که استفاده از نانوذره تیتانیوم در سطح ۰/۰۰۵ درصد در محیط کشت تأثیر مثبت در میزان تولید لیکوپن در این گونه جلبک نسبت به نمونه شاهد داشت. مقایسه بین تأثیر این سه نانو ذره در محیط کشت نشان داد که استفاده از نانوذره تیتانیوم در رقت ۰/۰۰۷ در محیط کشت باعث کاهش تولید لیکوپن در این جلبک نسبت به نانوذره نقره و منیزیوم شد. نتایج مقایسه بین دو محیط نیتروژنی سویا و پپتون گوشت نشان داد که افزایش نمک تأثیر مثبت در تولید لیکوپن در نمونه دارای منبع نیتروژنی سویا داشت .

Refrences

Al-Adali, K. (۲۰۱۲). Effect of Salinity, Temperature, Nutrients and CO۲ on Growth of TwoSpecies Journal of**King Abdulaziz** University. ۲۳(۱): p.۵۷.

Avron, M. and Ben-Amotz, A. (۱۹۹۲).Dunaliella,physiology,biochemistry and biotechnology.CRC Press,Boka Raton.pp;۱-۱۵.

Ben-Amotz A, Katz A, Avron M, ۱۹۸۲. Accumulation of β-carotene in the halotolerant algae: purification and characterization of β-carotene-rich globules from Dunaliella bardawil(chlorophyceae), , J Physol ۱۸:۵۲۹-۵۳۷

Bental, M. and Degani, H. (۱۹۹۲). NMR studies of Dunaliella, In: Dunaliella: physiology, biochemistry and biotechnology, (Avron, M. and Ben-Amotz, A.). CRC Press, Boca Raton,۱٦٥۱۹٤.

Borowitzka, M. A. And. Siva, Ch. J. ۲۰۰۷. The taxonomy of the genus Dunaliella (chlorophyta, Dunaliellales) with emphasis on the marine and halophilic species. Journal of Applied Phycology. ۱۱۹, ٥٥۹-٥٦۷

Borowitzka, M. A., Borowitzka, L. J. and Kessly, D. ۱۹۹۰. Effect of salinity increase on crotenoid accumulation in the green alga Dunaliella salina. Journl of Applied Phycology. ۲(۲), ۱۱۱–۱۱۹

Borowitzka MA, Borowitzka LJ (۱۹۸۸) Dunaliella. In: Borowitzka MA, Borowitzka LJ (eds) Microalgal biotechnology, Cambridge University Press, New York, p ٤۷۷

Borowitzka, A. M. and Siva, C. J. ۲۰۰۷. The taxonomy of the genus Dunaliella, Journal of Applied Phycology. ۱۹, ٥٦۷-٥۹۰.

Chitlaru, E. and Pick, U. ۱۹۹۱. Regulation of glycerol synthesis in response to osmotic changes in Dunaliella. Plant Physiology. ۹٦, ٥۰–۱۰.

Gimmler, H., E. M. Moller (۱۹۸۱):salinity-dependent regulation of starch and glycerol metabolism in dunaliella paravа .plant cell and enviroment ,٤,p.۳٦۷-۳۷٥.

Giordano, M and G. Bowes(۱۹۹۷). Gas exchange and C Allocation in Dunaliella salina cells in response to the N source and co۲ concentration used for growth,,plant physiol.,۱۱٥,p.۱۰٤۹-۱۰٥٦.

Hosseini Tafreshi, A. and Shariati, M. ۲۰۰۹. Dunaliella biotechnology, methods and applications. Journal of Applied Microbiology. ۱۰۷, ۱٤–۳٥.

Katz, A., Waridel, P., Shevchenko, A. and Pick, U. ۲۰۰۷. Salt–induced changes in the plasma membrane proteome of the halotolerant alga Dunaliella salina as revealed by blue native gel electrophoresis and Nano–LC–MS/MS analysis.Molecular and Cellular Proteomics. ٦(۹), ۱٤٥۹–۱٤۷۲

loeblich, L.A.(۱۹۷۲).Studies on the Brine Flagellate Dunaliella salina .ph.D.thesis ,university of California san Diego.

Oren-Shamir M, Pick U, Avron M (۱۹۸۹) Involvement of the plasma membrane ATPase in the osmoregulatory mechanism of the alga, Dunaliella salina. Plant Physiol ۸۹:۱۲٥۸–۱۲٦۳

Preisig, H. R. ۱۹۹۲. Morphology and Taxonomy. In: Dunaliella: physiology, biochemistry and biotechnology. Boca Raton, CRC Press. ۱-۲٦.

Shariati, M .۲۰۰۳ .Characterization of three species of Dunaliella salina ,Dunaliella parva and Dunaliella pseudosalina isolated from salt marsh of Gave Khoni of Isfahan-IRAN. Iranian Journal of Science and Technology۱۹۰-۱۸٥،۲۷

Srinivasan, R., et al.,(۲۰۱٥). Effect of dissolved inorganic carbon on β-carotene and fatty acid production in Dunaliella sp. Applied biochemistry andbiotechnology, ۱۷٥(٦): p. ۲۸۹٥-۲۹۰٦.

Telfer, A. ۲۰۰۲. What is beta-carotene doing in the photosystem II reaction centre?. Journal of Biology Science. ۳٥۷, ۱٤۳۱-۱٤۳۹

Abstract

The prime objective of this research was to evaluate the lycopene production in *Dunaliella salina* using various media. The results indicated that the highest content of lycopene and dry weight biomass was achieved in media containing glucose and beef peptone which pH was adjusted at ۷٫۵. $Co^{۲}$ as inorganic carbon had a negligible effect on lycopene and biomass production while adding nano magnesium and soybean protein in mentioned media caused the lycopene and biomass production to improve. On the other hand, adding organic carbon (glucose) at the high quantity had positive effect on biomass production while that reduced lycopene content comparing to low glucose containing media. Three treatments which titanium, Magnesium and Ag nanoparticles were used as variable factors on lycopen and biomass production enhanced lycopen productions at ۰٫۰۵ g/l. in overall evaluations, titanium was more effective on lycopen production than the rest. NaCL as a metabolic regulator stimulate *Dunaliella salina* to produce higher content of secondary metabolisms so two defined media containing soybean and beef pepton were considered to evaluate the effect of various contents of NaCL on lycopene and biomass productions. In two media, ۵ percent of NaCL had positive effects on lycopen production and higher content of it had deteriorated effect on it. Considering the biomass productions, the highest quantity of biomass were attained in ۱۵ percentage of NaCL and the trend had reversed at the any higher content.

Key words: *Dunaliella salina*, lycopene, NaCL, Growth and nano particles

Algalab